Über physikalisch-chemische und physiologische Wirkungen einiger Alkaloide auf Zellen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

k. b. Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

ACAD. LIBRAT. ERL.

vorgelegt von

Arnold Martin
approb. Arzt aus Stadtamhof.

Tag der mündlichen Prüfung: 8. und 9. Mai 1903.

Erlangen.
K. b. Hof- u. Univ.-Buchdruckerei von Junge & Sohn.
1903.

178

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.
Dekan: Prof. Dr. von Strümpell.
Referent: Prof. Dr. Penzoldt.

Pharmakodynamische Wirkungen kommen dadurch zustande, daß das Pharmakon und der Organismus in chemische und physikalische Wechselwirkung zu einander treten. Gerade die physikalischen Wirkungen chemischer Substanzen auf die lebende Zelle sind es, die unser besonderes Interesse beanspruchen, da sie dem Verständnis viel zugänglicher sind als die komplizierten chemischen Veränderungen, die sowohl das Protoplasma, über dessen molekularen Bau wir nur sehr geringe Kenntnisse besitzen, als auch die einwirkende chemische Substanz betreffen. Außerdem gibt uns das Studium physikalischer Einwirkungen auf die Zelle Antwort auf die Frage, ob auch hier allgemeine Gesetze der Physik, wie sie durch das Experiment des Physikers gefunden worden sind, auch für das physiologische, das heißt für das mit dem Organismus angestellte Experiment Geltung haben und durch dasselbe ihre Bestätigung finden. In sehr vielen Fällen wird es natürlich nicht ohne weiteres möglich sein, eine scharfe Unterscheidung zwischen chemischer und physikalischer Wirkung zu treffen. Es gilt dann eben Bedingungen zu schaffen, welche möglichst nur eine Wirkung zur Entfaltung und Anschauung bringen. So wird es gelingen, ein richtiges Urteil über eine pharmakodynamische Wirkung zu gewinnen.

Betrachten wir zunächst die Grundlagen physikalischer Wirkungen von Substanzen auf lebende Zellen.

Kochsalzlösung ist für lebende Zellen eine indifferente Substanz, solange ihre Konzentration von der Salzkonzentration im

Innern der Zelle nicht bedeutend abweicht. Bringen wir aber Zellen in eine Lösung mit höherem Prozentgehalt an Kochsalz, so sehen wir an ihnen eine charakteristische Gestaltsveränderung vorgehen: sie nehmen an Volumen ab, sie schrumpfen; bewegungsfähige Zellen stellen ihre Bewegungen ein und sterben schließlich ab. Der Grund für diese Erscheinungen liegt in der osmotischen Druckdifferenz des Zellinhaltes und der umgebenden Kochsalzlösung. Durch Diffusion des Kochsalzes in die Zelle kann sich kein Druckausgleich einstellen, da die lebende Zellmembran bezw. die Randschicht des Protoplasmas für Kochsalzmolekeln undurchgängig ist. Daß dies wirklich der Fall ist, hat die chemische Analyse der roten Blutkörperchen gezeigt, die, obwohl sie beständig in einer $^3/_4$prozentigen Kochsalzlösung (dem Blutserum) schwimmen, dennoch keine Spur Kochsalz enthalten. Umgekehrt halten die roten Blutkörperchen Kalisalze mit großer Zähigkeit fest und geben sie nicht an die umgebende Flüssigkeit ab.

Da also der Ausgleich durch Diffusion nicht erfolgen kann, muß er, falls keine starre Zellmembran existiert, durch Wasserabgabe aus der Zelle in die umgebende Flüssigkeit sich herzustellen versuchen. Innerhalb gewisser Grenzen wird ein solcher Ausgleich unbeschadet der Lebensfähigkeit der Zelle tatsächlich stattfinden. In anderen Fällen dagegen wird der Austritt der Wassermolekeln aus der Zelle schwere Schädigungen des Protoplasmas erzeugen, die schließlich das Absterben der Zelle bedingen.

Wie das Kochsalz sind noch viele andere Salze sowie die Zuckerarten nicht im stande, in lebende Zellen einzudringen. Wohl aber gibt es eine große Anzahl anderer chemischer, insbesondere organischer Substanzen, die mit größerer oder geringerer Leichtigkeit ins Innere von Zellen, seien es nun rote Blutkörperchen, Pflanzenzellen, Nervenzellen u. s. w., einzudringen vermögen. Ob nun eine chemische Substanz in lebende Zellen eindringt, kann man auf folgende Weise experimentell entscheiden.

A. Plasmolytische Methode von de Vries.

In Pflanzenzellen ist das Protoplasma bekanntlich eingeschlossen von der sogenannten Plasmahaut, die als äußerst

dünnes Häutchen der aus Cellulose bestehenden Membran anliegt. Die Cellulosemembran ist für Salze und Zuckerarten leicht durchgängig, die Plasmahaut dagegen nicht. Bringt man nun Pflanzenzellen in eine z. B. 1%ige Kochsalzlösung (die einen höheren osmotischen Druck besitzt als das Zellprotoplasma), so treten Wassermolekeln aus dem Protoplasma in die Kochsalzlösung aus. Dadurch nimmt der Inhalt des Plasmaschlauches an Volum ab, er schrumpft. Die Plasmahaut zieht sich von der starren Zellmembran zurück, was besonders bei gefärbtem Zellsafte, z. B. bei den Oberhautzellen des Blattes von Tradescantia discolor, gut zu beobachten ist. Diesen Vorgang nennen wir Plasmolyse. Ist der osmotische Druck des umgebenden Mediums dem des Protoplasmas gleich, oder vermag die Substanz ohne Schwierigkeit in die Zellen einzudringen, so daß ein Druckunterschied zwischen dem Zellinnern und der Umgebung sich sofort ausgleicht, so tritt keine Plasmolyse ein.

Wollen wir nun erfahren, ob eine Substanz in die Tradeskantiazellen eindringt oder nicht, so stellen wir uns eine Lösung der betreffenden Substanz her, die den gleichen oder noch höheren osmotischen Druck besitzt als die 1%ige Kochsalzlösung. Der osmotische Druck läßt sich leicht berechnen aus dem Molekulargewicht der Verbindung und ihrem Dissoziationskoeffizienten, oder wir ersehen den osmotischen Druck direkt aus der Gefrierpunktserniedrigung. In die der 1%igen Kochsalzlösung isosmotische Lösung des zu untersuchenden Körpers bringen wir nun die Tradeskantiazellen.

Dabei sind von vornherein folgende Fälle denkbar:

I. Die Substanz dringt rasch ein — es tritt auch in konzentrierten Lösungen keine Plasmolyse ein.

II. Die Substanz dringt langsam ein — es tritt Plasmolyse ein, die nach kürzerer oder längerer Zeit wieder zurückgeht.

III. Die Substanz dringt nicht ein — in ihrer Lösung findet dauernde Plasmolyse statt.

Der erste Fall ist ohne weiteres klar: es kann keine Plasmolyse eintreten, da ein sofortiger Druckausgleich stattfinden kann ohne Wasseraustritt aus der Zelle, also auch ohne Volumsverminderung derselben. Im zweiten Falle besteht anfänglich seitens der Lösung ein Überdruck, der durch Wasseraustritt

aus der Zelle kompensiert wird, d. h. durch Plasmolyse, die aber in dem Maße zurückgehen wird, als die Substanz durch Diffussion in das Zellinnere eindringt, da ja sonst im Zellinnern ein Überdruck entstehen würde. Im dritten Falle kann nach dem oben Gesagten ein Druckausgleich nur durch dauernde Plasmolyse erfolgen.

B. Blutkörperchenmethode nach Hamburger.

Bei dieser Methode findet eine der Physiologie längst bekannte Tatsache Anwendung. Bringt man rote Blutkörperchen eines Säugetieres in destilliertes Wasser, lo lassen sie bekanntlich ihr Hämoglobin fahren (sie „lösen sich auf"). Dies gibt sich dadurch kund, daß sich die Blut-Wassermischung nicht mehr, wie beim unverdünnten Blut, in klares überstehendes Serum und die abgesetzten roten Blutkörperchen scheidet, sondern die ganze Flüssigkeit wird gleichmäßig durchsichtig rot, „lackfarben".

Dies geschieht auch in einer 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 %igen Kochsalzlösung, erst in einer Konzentration von 0,6 % Kochsalz erfolgt keine Auflösung der roten Blutkörperchen. Eine 0,1—0,5 %ige Kochsalzlösung ist dem Zellinhalt der roten Blutkörperchen gegenüber hypisotonisch, infolgedessen erfolgt zum Zwecke des Druckausgleichs Wassereintritt in dieselben, sie quellen, platzen schließlich und lassen ihr Hämoglobin austreten. Die Lösung, die mit den roten Blutkörperchen der Warmblüter isosmotisch ist, ist eine 0,8—0,9 %ige. In einer 1 %igen Kochsalzlösung tritt bereits, wie bei den Pflanzenzellen Plasmolyse, bei den Erythrocyten Schrumpfung ein. Ebenso gilt dies füs alle hyperisosmotischen Lösungen von Salzen und Zuckerarten, vorausgesetzt, daß kein Eindringen derselben stattfindet. Andrerseits ist zu bemerken, daß, falls in isosmotischen Lösungen Auflösung der roten Blutkörperchen erfolgt, eine spezifisch schädigende Wirkung der gelösten Substanz auf die roten Blutscheiben angenommen werden muß, die den molekularen Bau derselben so verändert, daß sie ihr Hämoglobin abgeben.

Nach diesen Methoden ist nun eine große Anzahl von Verbindungen auf ihr Eindringungsvermögen in pflanzliche und tierische Zellen untersucht worden. Ich habe auf Anregung

von Herrn Privatdozent Dr. Heinz es unternommen, nach dieser Richtung einige Alkaloide, und zwar die salzsauren Salze des Morphins, des Kokains und des Atropins und das basische Koffein sowie die der Alkaloidreihe zur Basis dienenden Körper, Pyridin, Chinolin und das hexahydrierte Pyridin, das Piperidin, zu untersuchen. Untersuchungen in dieser Richtung liegen namentlich von Overton vor.

Overton hat gezeigt, daß die meisten freien Alkaloide außerordentlich leicht in tierische und pflanzliche Zellen eindringen. Eine Ausnahme hiervon mache das Morphin, das zwar ebenfalls, aber bedeutend langsamer eindringe. Die Salze der Alkaloide dringen nach Overton überhaupt nicht in merklichem Grade ein. Nur infolge hydrolytischer Spaltung oder bei Anwesenheit kleiner Mengen Alkali finde ein Eindringen des freien Alkaloids statt. Er hat dies damit bewiesen, daß der Zusatz geringer Mengen eines schwachen Alkalis, z. B. Natriumkarbonat, die Giftigkeit des betreffenden Alkaloids erhöhe, Zusatz von Säure dagegen, der die hydrolytische Zerlegung der Lösung zurückdrängt, die Giftigkeit fast vollständig aufhebt. In derselben Arbeit erwähnt Overton noch eine andere Methode zur Untersuchung der Permeabilität der Alkaloide. Bringt man lebende gerbstoffhaltige Zellen (z. B. die Fäden einer geeigneten Spirogyraart) in Alkaloidlösungen, so sieht man nach längerer oder kürzerer Zeit einen bräunlichen bis schwärzlichen Niederschlag im Zellsaft auftreten, der von einer unlöslichen Alkaloidgerbsäureverbindung herrührt.

Ich habe diese letzteren Versuche ebenfalls angestellt.

Bevor ich nun zur Beschreibung meiner Versuche im einzelnen übergehe, will ich noch verschiedener Punkte Erwähnung tun, die für die Beurteilung derselben von Wichtigkeit sind.

Die Basen Pyridin und Piperidin wurden, um die grobchemische Ätzwirkung auszuschließen, mit Salzsäure neutralisiert. Chinolin ist in Wasser unlöslich, infolgedessen konnten den andern Alkaloidlösungen nur durch Emulsionen in gleicher %iger Zusammensetzung einigermaßen ein Analogon an die Seite gesetzt werden. Morphin. hydrochl. ist nur zu ca. 5% in Wasser löslich, bei Koffein liegt die konzentrierte Lösung zwischen 1% und 2%.

Versuche an Tradeskantiazellen.

Die von der Unterseite des Blattes von Tradescantia discolor zu beiden Seiten der Mittelnerven in möglichst dünnen Schnitten mit dem Rasiermesser abgetragenen Epidermisscheibchen wurden in Uhrschälchen von verschiedenen Konzentrationen der zu untersuchenden Substanzen gebracht und bei schwacher Vergrößerung beobachtet.

Pyridin (neutr.) 1%: keine Plasmolyse nach 1 Stunde
5%: „ „ „ „ „ .

Piperidin (neutr.) 1%: keine Plasmolyse nach 1 Stunde
2%: geringe „ „ „ „
3%: stärkere „ „ „ „ .

Nach 3 Stunden ist die Plasmolyse anscheinend bei 2% etwas zurückgegangen, bei 3% sind alle Zellen noch stark plasmolysiert.

Nach 24 Stunden ist das Protoplasma bei 2% fast überall blau gefärbt, nirgends mehr Plasmolyse zu sehen, bei 3% sind fast alle Zellen farblos, die übrigen blau, nirgends mehr Plasmolyse.

Die reine alkalische Piperidinlösung erzeugt zu 5% keine Plasmolyse.

Koffein 1%: keine Plasmolyse
„ konzentr.: „ „
Cocain hydr. 1%: keine Plasmolyse, auch nach 1 Std. nicht
2%: „ „ „ „ „ „ „
3%: „ „ „ „ „ „ „
4%: Plasmolyse nach etwa 10 Minuten, nach 3 Stunden vollständig zurückgegangen.
5%: stärkere Plasmolyse, ebenfalls nach 3 Stunden zurückgegangen.
Atropin. hydr. 1%: keine Plasmolyse
2%: „ „
3%: „ „
4%: geringe Plasmolyse, nach ca. 6 Stunden wieder beobachtet. Plasmolyse völlig zurückgegangen.
5%: stärkere Plasmolyse, nach 6 Stunden noch nicht völlig zurückgegangen.

Morphin. hydr. 5%: auch nach 1 Stunde noch keine Plasmolyse zu beobachten.

Daß bei Pyridin in 5%iger Lösung keine Plasmolyse auftritt, beweist, daß das freie Alkaloid, wie schon Overton beobachtet hat, rasch eindringt. Das durch Neutralisation entstandene salzsaure Pyridin ist, da Pyridin eine schwache Base ist, in zu geringer Menge vorhanden, um den notwendigen osmotischen Überdruck hervorzurufen. Anders bei Piperidin, das eine starke Base ist und viel HCl zur Neutralisation braucht, also neutralisiert auch größere Mengen salzsauren Piperidins enthält. So sehen wir denn auch bereits in 2%iger Lösung Plasmolyse auftreten. Daß es nur das Salz ist, welches diese erzeugt, geht daraus hervor, daß die Piperidinbase auch zu 5% keine Plasmolyse erzeugt, also ebenso wie Pyridin leicht eindringt. Aus dem Koffeinversuch kann auf das Eindringen des Koffeins kein Rückschluß gezogen werden, da die konzentrierte Lösung auf keinen Fall hyperisotonisch ist (Mol.-Gew. des Koffeins 212).

Dagegen geht aus den mit Cocain. hydrochl. und Atropin. hydrochl. angestellten Versuchen mit Sicherheit hervor, daß ein Eindringen dieser Substanzen, wenn auch langsam, erfolgt.

Das Resultat des Morphinversuches wird weiter unten erörtert werden.

An dieser Stelle möge eine gelegentlich dieser Versuche gemachte nicht uninteressante Beobachtung erwähnt werden, die vielleicht geeignet ist, über das Wesen der Fähigkeit von Substanzen, in Zellen einzudringen, einiges Licht zu verbreiten. Bei den Kokain- und Atropin-, namentlich aber bei den Pyridin- und Piperidinversuchen ließ sich in einzelnen Zellen, in denen die Plasmolyse vollständig zurückgegangen war, eine gegen das Violett der übrigen Zellen deutlich hervortretende Blaufärbung erkennen. In den Tradeskantiazellen ist offenbar ein dem Lackmus ähnlicher Farbstoff enthalten. Ich untersuchte nunmehr die Tradeskantiazellen in abnehmenden Konzentrationen von NaOH und HCl.

Der Erfolg war der, daß durch Natronlauge eine exquisite Blaufärbung, durch Salzsäure eine ebensolche Rotfärbung erzeugt wurde, die um so langsamer auftrat, je größer die Verdünnung war. Diese Umfärbung kann bei zweckmäßig ausgewählter

Konzentration von Säure oder Base sehr gut beobachtet werden. Man sieht z. B. in alkalischer Lösung, wie das Violett einer Zelle allmählich an Rot verliert und an Blau zunimmt bis zur völligen Blaufärbung.

Diese Erscheinung bei neutral reagierenden Salzen oder neutralisierten Basen dürfte darauf hindeuten, daß es nur der alkalische Teil des Moleküls ist, der in die Zelle eindringt, eine Annahme, die mit der erwähnten Overtonschen bezüglich des Eindringens der Alkaloide in Einklang stünde.

Nach den Resultaten der Tradeskantiaversuche war es von Interesse zu erfahren, ob auch die auf physikalischem Wege gefundenen osmotischen Druckwerte der Alkaloidlösungen ein mit den physiologischen Versuchen übereinstimmendes Resultat lieferten. Zu dieser Ermittlung standen zwei Wege offen, entweder die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit der betreffenden Lösungen zur Ermittlung ihres Dissoziationsgrades oder die Feststellung der Gefrierpunkte der betreffenden Lösungen. Ich habe den letzteren gewählt.

Literaturangaben scheinen auf diesem Gebiete noch gänzlich zu fehlen.

Die Bestimmungen wurden mittels des in Laboratorien meist gebräuchlichen Beckmannschen Apparates ausgeführt.

Als Ausgangs- und Kontrollversuch wurde nicht der Gefrierpunkt des destillierten Wassers, dessen genaue Feststellung wegen der Schwierigkeit, ganz reines destilliertes Wasser zur Hand zu haben, und aus andern Gründen nach der Angabe verschiedener Autoren nicht leicht ist, sondern der einer sorgfältig bereiteten 1%igen NaCl-Lösung ermittelt, der konstantere Werte ergibt. Für diese Lösung wurde nach den übereinstimmenden Versuchen von Raoult, Jones, Loomis, Abegg, Nernst und Abegg die Depression durch Interpolation zu 0,589° ermittelt.

Diese Bestimmung der 1%igen Kochsalzlösung wurde am Anfange und am Ende jeder der beiden Versuchsreihen ausgeführt. Für jedes Alkaloid wurden je drei Bestimmungen hinter einander gemacht, das aus den Zahlen erhaltene arithmetische Mittel abgerundet als Gefrierpunkt angenommen und die Erniedrigung desselben festgestellt.

Bei allen Versuchen wurde besonders auf möglichst gleich-

mäßige Ausführung aller Bestimmungen geachtet, insbesondere Temperaturschwankungen des Kühlgefäßes um mehr als $1^1/_2{}^0$ (zwischen $6^1/_2{}^0$ und 8^0) vermieden und die Impfung stets bei annähernd der gleichen Unterkühlung vorgenommen.

Die Untersuchungen wurden an den drei verwendeten Salzen, dem Cocain. hydrochl., dem Atropin. hydrochl. und dem Morphin. hydrochl. ausgeführt.

NaCl 1%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,515	3,52	3,515
Depression:		0,589	
Atrop. hydrochl. 5%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,625	3,63	3,63
Depression:		0,474	
Cocain. hydrochl. 5%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,64	3,64	3,64
Depression:		0,464	
Morph. hydrochl. 5%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,95	3,94	3,94
Depression:		0,159	
NaCl 1%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,505	3,515	3,515
Depression:		0,589	
NaCl 1%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,55	3,56	3,65
Depression:		0,589	
Atrop. hydrochl. 2,5%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,895	3,895	3,90
Depression:		0,244	
Cocain. hydrochl. 2,5%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,905	3,905	3,895
Depression:		0,239	
NaCl 1%	I.	II.	III.
Gefrierpunkt:	3,55	3,545	3,550
Depression:		0,589	

Will man nun ermitteln, welchen Kochsalzkonzentrationen die 5 bezw. 2,5 %igen Alkaloidlösungen isosmotisch sind, so braucht man nur in Tabellen Kochsalzkonzentrationen gleicher Gefrierpunktserniedrigung aufzusuchen, die ja, da sie osmotisch gleich konzentriert sind, den gleichen osmotischen Druck aus-

üben. Am geeignetsten erwies sich für meine Bestimmungen die Tabelle von Koeppe, deren in Betracht kommende Zahlen hier Platz finden mögen:

g NaCl in 1000 ccm Wasser	Δ
11,36	0,687
6,82	0,424
2,73	0,117.

Die für die 5%ige Atropinlösung gefundene Depression ist 0,474. Die isosmotische Kochsalzlösung liegt also zwischen der 0,682 und der 1,136%igen. Durch Interpolation läßt sich die isosmotische Kochsalzlösung zu 0,76% ermitteln.

2,5% Atrop. hydrochl.	isosm.	0,44% NaCl
5% Cocain. hydrochl.	„	0,75% „
2,5% „ „	„	0,43% „

Zur Berechnung des absoluten osmotischen Druckes in Atmosphären führen folgende Überlegungen:

Fände in einer beliebigen Lösung keine Dissoziation statt, so müßte die Gefrierpunktserniedrigung $\Delta' = \frac{1{,}85 \cdot c}{M}$ sein, wobei c die Gewichtsmenge der Substanz in 1000 ccm Wasser, ausgedrückt in g und M das Molekulargewicht der Substanz darstellt. 1,85 ist die Gefrierpunktserniedrigung nicht dissoziierter organischer Normallösungen.

Ist nun aber die wahre Gefrierpunktserniedrigung $= \Delta$, so wird durch den Quotienten $\frac{\Delta}{\Delta'}$ angegeben, wie vielmal mehr Teilstücke (ungespaltene Molekeln + gespaltene) sich in der tatsächlich dissoziierten Lösung befinden als in der nicht dissoziiert gedachten.

Also: $$\frac{\Delta}{\Delta'} = \frac{\Delta}{\frac{1{,}85 \cdot c}{M}} = \frac{\Delta \cdot M}{1{,}85 \cdot c}$$

So findet man für:

Kokain 5% $\frac{\Delta}{\Delta'} = 1{,}7$

„ 2,5% $\frac{\Delta}{\Delta'} = 1{,}75$

Atropin 5,0% $\frac{\Delta}{\Delta'} = 1{,}66$

„ 2,5% $\frac{\Delta}{\Delta'} = 1{,}73$

Mit Hilfe dieser Zahlen läßt sich nun der absolute osmotische Druck folgendermaßen berechnen:

$^1/_{22}$ g H übt, in einem Volumen von 1 Liter vergast gedacht, bei 0° einen Druck von 1 Atm. aus. Also würden z. B. 50 g Atropin. hydrochl. unter den gleichen Voraussetzungen einen Druck von $22 \cdot \frac{50,0}{325,5}$ ausüben, falls keine Dissoziation stattfände. Da aber, wie wir gesehen haben, eine solche vorhanden ist, so ist die gefundene Zahl mit dem Quotienten $\frac{A}{A'}$ für Atropin 5% also mit 1,66 zu multiplizieren.

So findet man für

5% Atrop. hydrochl. 5,6 Atm. Druck bei 0°
5% Cocain. hydr. 5,5 „ „ „ „ „.

Bei der Gefrierpunktsbestimmung der 5%igen Morphinlösung hatte sich gezeigt, daß das Salz in Menge ausfiel, also nur ein Bruchteil desselben (d. h. der bei Beginn der Gefrierung in Lösung befindliche) als maßgebende Konzentration anzusehen war. Es wurde daher durch Filtration bei 0° und analytische Wägung die maximale Konzentration der Morphinlösung bei 0° festgestellt. Auf große Genauigkeit kann diese Bestimmung allerdings keinen Anspruch machen, da ja die Filtration nicht bei dem Gefrierpunkt der Morphinlösung, sondern bei 0° (oder wohl etwas darüber) vorgenommen wurde. Infolgedessen dürfte die gefundene Konzentration von 2,56% Morph. hydrochl. etwas zu hoch sein. Da nun ferner das Molekül des Morphin. hydrochl. 3 H_2O Krystallwasser enthält, so war die bei der Berechnung des osmotischen Druckes zu berücksichtigende Konzentration nicht 25,6 g im Liter, sondern $25,6 \cdot \frac{M - 3H_2O}{M}$

$= \frac{321,5}{375,5} \cdot 25,6 = 21,9$ g im Liter, also 2,19%ig.

Berechnet man nun mit der Gefrierpunktserniedrigung dieser Konzentration die isosmotische NaCl-Lösung, so findet man 0,38% NaCl. Da aber die Gefrierpunktsdepression nach dem oben Gesagten wahrscheinlich für eine noch geringere Konzentration als 2,19%, also schätzungsweise für 2% gilt, so findet man nunmehr eine gute Übereinstimmung mit den isosmotischen Kochsalzkonzentrationen von Atropin und Kokain:

Kok. 2,5% isosmot. NaCl% 0,43
Atrop. 2,5% isosmot. NaCl% 0,44
Morph. 2,0% (schätzungsweise) isosmot. NaCl% 0,38.

Vergleichen wir nun die mit der physikalischen Methode gefundenen Zahlen mit denen der Tradeskantiaversuche, so sehen wir folgendes:

Eine 0,5%ige Kochsalzlösung ist für die Tradeskantiazellen hypisotonisch, eine ca. 0,7%ige eben hyperisotonisch.

Die 5%igen Lösungen des salzsauren Kokains und Atropins sind nach den Gefrierpunktbestimmungen isosomotisch 0,75 bezw. 0,76%igen Kochsalzlösungen, die also bereits Plasmolyse bei den Tradeskantiazellen hervorrufen. In der Tat tun dies auch die 5%igen Kokain- und Atropinlösungen. 3%ige Lösungen rufen keine Plasmolyse hervor, was ganz erklärlich ist, da 2½%ige nur einer ca. 0,43%igen, also für die Tradeskantiazellen weit hypisotonischen Kochsalzlösung isosmotisch sind. Analoge Vergleiche lassen sich für die Morphinlösungen nur annäherungsweise durchführen, da, wie wir gesehen haben, die Gefrierpunktserniedrigung nur für eine ca. 2%ige Lösung zu ermitteln war. Immerhin wird man nach der guten Übereinstimmung, die die Zahlen des Morphins mit denen des Kokains und Atropin aufweisen, in der Annahme nicht sehr fehlgehen, daß sich die durch Auflösen von 5 g Morphin. hydrochlor. in 100 ccm Wasser erhaltene, tatsächlich aber wegen des Krystallwassers im Molekül nur 4,28%ige Morphinlösung den Tradeskantiazellen gegenüber ähnlich verhalten müßte wie die gleich konzentrierten Kokain- und Atropinlösungen. Sie müßte also Plasmolyse erzeugen. Da dies nicht der Fall ist, so liegt die Vermutung nahe, daß ein rasches Eindringen des Morphins erfolgt, ein mit der Angabe Overtons in Widerspruch stehendes Resultat.

Versuche an Spirogyren.

Die Fadenalgen wurden in Uhrschälchen mit 1%igen Alkaloidlösungen, zu deren Herstellung nicht destilliertes Wasser, sondern 0,7%ige NaCl-Lösung verwendet wurde, gebracht und bei schwacher Vergrößerung beobachtet:

Pyridin: Nach etwa fünf Minuten ziemlich intensive graubraune Körnelung im Protoplasma zu sehen. Chlorophyllbänder

noch sehr undeutlich zu erkennen, verschwinden allmählich ganz.

Piperidin: Die Fällung tritt langsamer auf, wird aber viel intensiver als bei Pyridin. Die Körnelung schwarzbraun. Das Protoplasma vieler Zellen nach etwa 1 Stunde in Teilstücke zerfallen (Plasmoschise).

Chinolin: Das ganze Protoplasma augenblicklich erfüllt von einer starken grauschwarzen Trübung, keine Spur von Struktur (Chlorophyllbänder nicht mehr zu sehen, stellenweise Zellen frei von Trübung, hier starke Plasmoschise).

Kokain: Starke rasch auftretende Trübung, stellenweise Plasmoschise.

Atropin: Langsam zunehmende Trübung, allmähliches vollständiges Verschwinden der Chlorophyllbänder.

Morphin: Chlorophyllbänderanordnung noch überall deutlich zu sehen, Trübung gering, keine Plasmoschise.

Koffein: Intensive Füllung, keine Plasmoschise.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen das allen untersuchten Alkaloiden gemeinsame Resultat, daß sie mit größerer oder geringerer Geschwindigkeit in die Spirogyrenzellen einzudringen vermögen.

Die Beobachtung der bei Piperidin stärker als bei Pyridin auftretenden Fällung legte den Gedanken einer experimentellen Untersuchung der Fällungsverhältnisse beider Alkaloide nahe.

Zu 1%-, 0,5%-, 0,1%-, 0,05-, 0,01%igen Lösungen von Acid. tannic. wurde je ein Tropfen einer 10%igen Pyridin-, bezw. in einer zweiten Reihe einer 10%igen Piperidinlösung zugesetzt. Dabei ergab sich folgendes Resultat:

Die Pyridinreihe zeigte mit abnehmender Gerbsäurekonzentration eine abnehmende Fällungsmenge. Bei Piperidin dagegen nahm die Fällungsmenge mit abnehmender Konzentration bis zu einer gewissen Grenze zu. Daraus geht hervor, daß die in Wasser unlösliche Verbindung des Piperidins in einem Überschuß von Gerbsäure löslich ist. Daß die absolut fällende Wirkung des Piperidins eine stärkere ist als die des Pyridins, geht daraus hervor, daß bei Konzentrationen von 0,01 Tannin dieselbe bei Pyridin = 0 ist, bei Piperidin dagegen deutlich sichtbar, ja sogar bei 0,005% Gerbsäure noch erkennbar ist. Da nun in den Spirogyrenzellen Gerbsäure nur in geringer

Menge vorhanden sein dürfte, so daß eine Lösung der Fällung im Überschuß bei Piperidin ausgeschlossen ist, erklärt es sich, daß Pyridin die schwächere, Piperidin die stärkere Fällung erzeugt.

Versuche an roten Blutkörperchen des Kaninchens.

Zu diesen Versuchen wurde frisches, der Karotis des Kaninchens entnommenes, defibriniertes und durch Kolierung von allen Fibrinresten sorgfältig befreites Blut verwendet. Um jede Spur freien Hämoglobins im Serum zu vermeiden, durfte dasselbe natürlich nicht mit destilliertem oder Leitungswasser in Berührung kommen. Es mußten also alle zur Verwendung gelangenden Gefäße, Instrumente etc. möglichst trocken sein.

Dieses so vorbereitete Blut wurde in einer Menge von $^1/_2$ ccm = 10 Tropfen zu $9^1/_2$ ccm vorher aus 10% igen Stammlösungen hergestellten Alkaloidlösungen zugesetzt, die nunmehr dieselbe Menge Blut in derselben Menge Lösung von verschiedenem genau bekannten Prozentgehalt an fester Substanz enthielten.

Um genau chemische und physikalische Wirkungsweise trennen zu können, wurde eine Reihe Alkaloidlösungen mit destilliertem Wasser, eine zweite mit 0,7% iger NaCl-Lösung angefertigt.

Fand im ersteren Falle Auflösung der roten Blutkörperchen statt, so konnte sie chemischen Ursprungs, physikalischen Ursprungs oder beides zugleich sein. Trat dagegen in der zweiten Versuchsreihe Auflösung ein, so mußte sie rein chemischen Ursprungs sein, einer giftigen Wirkung der betreffenden Substanz zugeschrieben werden. War dies richtig, so mußte der Versuch der zweiten Reihe seine Bestätigung dadurch finden, daß, falls bei ihm Auflösung zu konstatieren war, auch in einer hyperisotonischen Lösung der betreffenden Substanz Auflösung erfolgte.

I. Je 10 ccm Aq. dest. enthalten $^1/_2$ ccm Blut und 1% Alkaloid.

Pyridin (neutralis.): vollständige Auflösung.
Chinolin: „ „
Piperidin (neutral.): „ „
Morphin. hydr.: „ „
Cocain. „ „ „
Atropin. „ „ „
Coffein. „ „ „

II. Je 10 ccm NaCl-Lösung 0,7% enthalten $^1/_2$ ccm Blut und 1% Alkaloid.

Pyridin (neutr.): Keine Auflösung, auch nach 24 Stunden nicht.

Chinolin: Langsam zunehmende, in 24 Stunden vollendete Auflösung.

Piperidin (neutr.): Keine Auflösung, auch nach 24 Stunden nicht.

Morphin: Allmählich zunehmende, nach 24 Stunden noch nicht vollendete Auflösung (0,1% keine Auflösung).

Kokain: Nach 24 Stunden vollendete Auflösung.

Atropin: Nach 12 Stunden vollendete Auflösung.

Koffein: Keine Auflösung.

Kontrolle. NaCl 0,7%: Keine Auflösung.

III. Je 10 ccm Aq. dest. enthalten $^1/_2$ ccm Blut und 5% Alkaloid.

Pyridin (neutr.): Sofortige vollständige Auflösung.

Pyridin: 5% c. NaCl 0,7%, ebenfalls Auflösung.

Chinolin: Sofortige vollständige Auflösung.

Piperidin (neutr.): Keine Auflösung.

Morphin: Allmählich zunehmende Auflösung.

Kokain: Sehr langsam eintretende Auflösung, erst nach 2 Tagen vollendet.

Atropin: Auflösung nach etwa einem Tag vollendet.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen das Resultat, daß alle Alkaloide mit Ausnahme des Koffeins, Pyridins und Piperidins in 1% igen Lösungen eine Giftwirkung auf die roten Blutkörperchen ausüben. Pyridin wirkt erst zu 5% giftig. Was die Permeabilität der roten Blutscheiben für die untersuchten Alkaloide betrifft, so dringen die giftig wirkenden natürlich ein. Bezüglich des Koffeins kann über die Permeabilität nichts ausgesagt werden, da es in isotonischer Konzentration nicht in Wasser löslich ist. Daß Piperidin zu 5% keinen Farbstoffaustritt hervorruft, also nicht einzudringen scheint, steht mit den Tradeskantia- und Spirogyrenversuchen nicht in absolutem Widerspruch, wenn man mit Hamburger annimmt, daß es sehr wohl Substanzen geben könne, die in isotonischen Konzentrationen bis zu einem gewissen Maße in die Blutkörperchen einzudringen vermögen, ohne Hämoglobinaustritt zu verursachen.

Von Interesse war noch, zu beobachten, welche Substanzen den normalen Eintritt der Reduktion des O-Hämoglobins verhindern. Das Resultat war, daß, während bei der Kontrolle nach 48 Uhr reduziertes Hämoglobin nachzuweisen war, dies nicht bei Pyridin, Chinolin, Piperidin und Koffein möglich war. Dagegen war die Reduktion bei Kokain, Atropin und Morphi neingetreten.

Im Anschluß an vorstehende physikalisch-chemische Untersuchungen wurden die bisher verwendeten Alkaloide noch bezüglich ihrer Protoplasmagiftwirkung auf pflanzliche und tierische Zellen bezw. Organismen geprüft. Der Giftwirkung einiger dieser Alkaloide auf die roten Blutzellen geschah bereits am Schlusse des vorigen Abschnittes Erwähnung. Hinweisen möchte ich nur noch bezüglich dieser Untersuchungen auf einen Widerspruch, der sich zwischen meinen und Zahns Angaben bei Morphin findet. Zahn schreibt:

„Morphin, mit Kochsalz (0,6 %): Blutkörperchen gut abgesetzt, kein Blutfarbstoff gelöst.“

Ich habe bei mehrfach wiederholten Versuchen stets eine Auflösung der roten Blutkörperchen bei dem mit physiologischer Kochsalzlösung angestellten Versuche gesehen. Möglicherweise waren die verwendeten Morphinpräparate etwas verschieden. Doch ist dies nicht gerade wahrscheinlich, da beide von Merck bezogen waren. Näher liegend ist die Annahme eines individuellen Unterschieds in der Resistenz der Erythrocyten des Kaninchens. Ähnliche Unterschiede im Verhalten der roten Blutkörperchen verschiedener Tiere sind im gleichen Institute, wo diese Arbeit gemacht wurde, bei Kalium chloricum beobachtet worden.

Weitere vergleichende Untersuchungen wurden an einer im Enddarm des Frosches regelmäßig auffindbaren Infusorienart angestellt, der sog. Opalina ranarum, die eine lebhafte, durch einen dichten Flimmerkranz bedingte Eigen- und Lokomotionsbewegung zeigt.

Von dem Darminhalt eines Frosches wurde etwas in 1 %ige Alkaloidlösungen, die mit 0,6 %iger Kochsalzlösung angefertigt waren, gegeben und mehrere Stunden hindurch mit schwachem System beobachtet. Vor dem Austrocknen wurden die Präparate durch feuchte Kammer geschützt.

Pyridin (neutralis.).

nach 10 Minuten: Die Flimmerbewegung nicht mehr ganz so lebhaft, wie bei Kontrolle. Deshalb der Ablauf derselben besser zu sehen, Lokomotion wie bei Kontrolle.

„ 20 „ In nichts geändert.

„ 30 „ Immer noch gut beweglich, keine weitere Verlangsammung der Flimmerung zu konstatieren.

„ 60 „ Lokomotion gegenüber Kontrolle deutlich verlangsamt, bei allen Individuen vorhanden; Flimmerung ebenfalls verlangsamt.

„ 3 Stunden: Ortsbewegung äußerst schwach, Flimmerung äußerst schwach, aber deutlich erkennbar.

Piperidin (neutralis.).

„ 10 Minuten: Anscheinend ebenso lebhafte Flimmerung und Lokomotion wie Kontrolle.

„ 30 „ Viele Individuen unbeweglich mit langsamer Flimmerung (bei einzelnen fehlt auch diese), einzelne noch gut beweglich.

„ 30 „ Nur noch wenige äußerst träge beweglich, keine gut beweglichen mehr zu sehen.

„ 60 „ Von Lokomotion und Flimmerung nichts mehr zu sehen.

Chinolin.

„ 10 „ Alle Individuen vollständig unbeweglich, Flimmern starr, anscheinend tot.

Koffein.

„ 10 „ Flimmerung und Lokomotion deutlich verlangsamt.

„ 20 „ Lokomotion fast aufgehoben, Flimmerung äußerst langsam.

„ 30 „ Nirgends mehr Lokomotion oder Flimmerung zu sehen.

Cocain. hydrochl.

nach 10 Minuten: Einzelne unbeweglich mit langsamer Flimmerung, die meisten lebhaft wimpernd und gut beweglich.

„ 20 „ In nichts geändert.

„ 30 „ Die Ortsbewegungen werden deutlich langsamer, ebenso die Flimmerung.

„ 60 „ Alle Individuen bewegungslos, Flimmerkranz starr.

Atropin. hydrochl.

„ 10 „ Lokomotion fast aufgehoben, Flimmerbewegung äußerst träg.

„ 20 „ Bei keinem Individuum mehr Ortsbewegung oder Flimmerung zu sehen.

Morphin. hydrochl.

„ 10 „ Wie Kontrolle.

„ 20 „ Lokomotion verlamgsamt, Flimmerung bei allen Individuen lebhaft.

„ 30 „ Noch mehr verlangsamt, Ablauf der Flimmerbewegung gut zu sehen.

„ 60 „ Lokomotion fast vollständig sistiert, überall noch deutliche Flimmerung.

„ 3 Stunden: Alle Opalinen vollständig unbeweglich, mit starrem Flimmerkranz.

Kontrolle.

Bewegungen von Stunde zu Stunde langsamer werdend. Nach 4 Stunden einzelne tot.

Das allgemeine Resultat ist, daß mit Ausnahme des Morphins, das anscheinend von nur geringer Giftigkeit für die Infusorien ist, alle übrigen Alkaloide die Opalinen nach längerer oder kürzerer Zeit abtöten. Dabei ist das nicht neutralisierte Chinolin zweifellos am wirksamsten, was mit dessen Basizität zusammenhängen dürfte, zumal da beobachtet wurde, daß die Pyridin- und Piperidinbasen ebenfalls in weit kürzerer Zeit ein Absterben der Opalinen bedingen als die neutralisierten Lösungen.

Pyridin ist weniger wirksam als Piperidin, Atropin wirksamer als Kokain.

Versuche an Flimmerzellen des Frosches.

Als zweckmäßigste Methode erwies sich mir, nachdem verschiedene Versuche, bei der gewöhnlichen Untersuchung im Uhrschälchen zu übereinstimmenden Resultaten zu kommen, gescheitert waren, die Untersuchung der ausgeschnittenen Rachenhautstückchen im hängenden Tropfen. Die Stückchen wurden flach auf Deckgläsern ausgebreitet, auf jedes derselben ein Tropfen einer 1 %igen Alkaloidlösung gegeben und damit der hängende Tropfen angelegt. Mit stärkeren Trockensystemen ist dann — meist in größerer Ausdehnung — ein lebhaft flimmernder Saum an den Rändern der Stückchen zu sehen. Die Methode hat den Vorzug, daß eine bestimmte Stelle markiert und nach bestimmten Zeitabschnitten untersucht werden kann. Bei der oben genannten zuerst geübten Methode wird ferner durch die häufige Herausnahme aus dem Schälchen und Ausbreitung der Stückchen auf dem Objektträger der Flimmersaum mechanisch geschädigt, so daß er oft gar nicht mehr aufzufinden ist, was bei der Untersuchung im hängenden Tropfen ausgeschlossen ist.

Pyridin (neutralis.).

nach	15	Minuten:	Lebhaft flimmernd.
„	3	„	„ „
„	60	„	„ „
„	4	Stunden:	„ „
„	8	„	Lebhaft flimmernd, keine Verlangsamung gegenüber Kontrolle wahrzunehmen.
„	24	„	Noch überall deutliche Flimmerung.

Piperidin (neutralis.).

„	15	Minuten:	Lebhaft flimmernd.
„	30	„	„ „
„	60	„	„ „
„	4	Stunden:	„ „
„	4	„	Einzelne Stellen anscheinend unbeweglich, der größte Teil des Saumes lebhaft flimmernd.
„	24	„	Langsame Flimmerung an einzelnen Stellen des Saumes.

Chinolin.

nach 15 Minuten: Flimmerung deutlich verlangsamt, aber immer noch lebhaft.

„ 30 „ Flimmerung noch mehr verlangsamt, an einzelnen Stellen unbewegliche starre Wimpern.

„ 60 „ Der Ablauf der Flimmerbewegung in Form einer Welle mit großer Deutlichkeit zu sehen.

„ 4 Stunden: Überall starre Wimpern, nirgends mehr Flimmerung.

Coffein.

„ 15 Minuten: Flimmersaum vollständig starr und unbeweglich.

Cocain. hydrochl.

„ 15 „ Lebhafte Flimmerung.

„ 30 „ An einzelnen Stellen unbeweglicher Wimpersaum, die meisten Stellen langsam flimmernd.

„ 60 „ Nur noch an wenigen Stellen Flimmerung zu sehen.

„ 4 Stunden: Nirgends mehr Flimmerung.

Atropin. hydrochl.

„ 10 Minuten: Lebhaft flimmernd.

„ 30 „ Die Exkursionen der Bewegung sind kleiner, mehr zitternd, aber lebhaft.

„ 60 „ Wir vor 30 Minuten.

„ 4 Stunden: Der Flimmersaum überall starr und unbeweglich.

Morphin. hydrochl.

„ 10 Minuten: Lebhaft flimmernd.

„ 30 „ „ „

„ 60 „ „ „

„ 4 Stunden: „ „

„ 8 „ Der ganze Saum noch lebhaft flimmernd, keine Verlangsamung gegenüber der Kontrolle wahrzunehmen.

Kontrolle.

„ 8 „ Lebhafte Flimmerung.

Das auffallendste Resultat dieser Versuche ist die starke Giftwirkung des Koffeins, das eine spezifische Affinität zu den Flimmerzellen zu haben scheint, ähnlich wie dies für die Muskelfaser bekannt ist.

Ganz unwirksam scheint Pyridin, Piperidin und Morphin zu sein, alle übrigen wirken nach einigen Stunden lähmend auf die Flimmerzellen ein.

Versuche an Bakterien.

Bei diesen Versuchen wurde lediglich die wachstumhemmende Wirkung der Alkaloide auf Bakterien geprüft. Als Versuchsobjekte dienten Staphylococcus pyogenes aureus und Bact. pyocyaneum. Von Nährböden wurde der feste dem flüssigen vorgezogen, da er einerseits eine bessere Abstufung in der Wirkung der betreffenden Substanz erkennen läßt und andererseits fremdes Bakterienwachstum, wie es bei der bezüglich Sterilität nicht absolut einwandfreien Herstellung der Alkaloidnährlösungen möglich ist, sofort als solches zu unterscheiden und auszuschließen ermöglicht.

Im einzelnen war die Anordnung der Versuche folgende:

Aus den 10%igen Stammlösungen wurden mit sterilen Pipetten bestimmte Mengen in die entsprechenden Mengen verflüssigter Nährgelatine gegeben, so daß je 2 ccm derselben einen genau bekannten Prozentgehalt an festem Alkaloid enthielten. Die Pyridin- und Piperidinnährlösungen wurden aus den unverdünnten Basen hergestellt, Koffein und Morphin in abgewogener Menge direkt der Gelatine zugefügt.

Von diesen 2 ccm wurde je einer etwa in der Größe eines Dreimarkstückes in eine Petri-Schale ausgegossen und nach dem Erstarren mit je 5 Tupfimpfungen von Staphylokokkus und Bact. pyocyan. versehen. Nach mehrtägiger Bebrütung im Thermostaten bei 22° C. wurden die Kolonien bezüglich ihrer Größe mit denen der Kontrolle verglichen. Um die vielen, infolge des verschiedenen Verdünnungsgrades der Gelatine notwendigen Kontrollaussaaten zu sparen, wurden einige Kontrollversuche mit verschieden verdünnter Gelatine angestellt, deren Resultate gleich auf der nächsten Seite Platz finden mögen.

(Größe der Kolonien in mm)

		Wasserzusatz	10 %	30 %	50 %
Pyocyan.	Beobacht. n.	1. Tag	eben sichtbar	eben sichtbar	eben sichtbar
	„ „	2. „	1—2	1—2	1—3
	„ „	3. „	3—4	3—5	3—5
	„ „	4. „	5—7	6—10	5—8
Staphylokokk.	Beobacht.	1. „	0	0	0
	„ „	2. „	stecknadelkopfgr.	stecknadelkopfgr.	stecknadelkopfgr.
	„ „	3. „	2—3	3—4	2—4
	„ „	4. „	5—6	10—12	10—12

Aus diesen Vorversuchen ist also zu ersehen, daß der Verdünnungsgrad der Gelatine keine Rolle für die Größe der Kolonien spielt, jedenfalls keine Abnahme ihrer Größe erzeugt.

Die Abkürzungen P. und St. bedeuten Bact. pyocyan. und Staphylococc. pyog. aur. Die Zahlen geben die ungefähre Größe der Kolonien in mm.

Alkaloidgehalt der Gelatine:		Größe der Kolonien nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
Pyridin (neutr.):	P. 10 %	0	0
	P. 5 %	0	1
	St. 10 %	0	0
	St. 5 %	0	stecknadelkopfgr.
Chinolin:	P. 2 %	eben sichtbar	. . . ebenso
	P. 1 %	stecknadelkopfgr.	. ebenso
	P. 0,5 %	1	2
	St. 2 %	0	eben sichtbar
	St. 1 %	0	„ „
	St. 0,5 %	0	stecknadelkopfgr.
Piperidin (neutr.):	P. 10 %	0	6
	P. 5 %	8	10
	St. 10 %	0	0
	St. 5 %	stecknadelkopfgr.	1
Cocain. hydrochl.:	P. 5 %	0	0
	P. 4 %	0	0
	P. 3 %	0	0
	P. 2 %	3	5
	P. 1 %	6	8
	St. 5 %	0	0
	St. 4 %	0	0
	St. 3 %	0	0
	St. 2 %	0	0
	St. 1 %	stecknadelkopfgr.	stecknadelkopfgr.
Atropin. hydrochl.:	P. 2 %	0	0
	P. 1 %	5	8
	St. 2 %	0	0
	St. 1 %	eben sichtbar	stecknadelkopfgr.
Morphin. hydrochl.	P. 3 %	stecknadelgr.	1
	P. 2 %	4	5
	P. 1 %	10	10
	St. 3 %	0	0
	St. 2 %	0	0
	St. 1 %	stecknadelkopfgr.	1
Koffein:	P. 1 %	1	2
	St. 1 %	eben sichtbar	eben sichtbar

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß alle die untersuchten Alkaloide erst in höheren Konzentrationen absolut entwicklungshemmend wirken. Bei Vergleichen ähnlich konstituierter zeigt sich, daß Piperidin weniger wirksam als Pyridin ist, Kokain und Atropin annähernd gleichwertig sind, Morphin nur einen geringen, Koffein dagegen einen ziemlich intensiven wachstumhemmenden Einfluß ausübt.

Vergleicht man die Versuchsobjekte Staphylokokkus und Pyocyaneus in ihrer Resistenz gegen die Entwicklungshemmung, so zeigt sich der Pyocyaneus widerstandsfähiger als der Staphylokokkus.

Versuche mit Fäulnisbakterien.

Muskelstückchen wurden im Bodenstaub gewälzt, sodann in die Giftlösungen von bestimmter Konzentration gegeben und bei 37° bebrütet. Hatte Entwicklung von Fäulnisbakterien stattgefunden, so mußte der bekannte widerliche Geruch faulenden Fleisches auftreten.

Alkaloid in Lösung:	5%	1%	0,1%
Pyridin:	riecht nicht	riecht schwach	stinkt
Piperidin:	riecht nicht	riecht	—
Chinolin:	riecht nicht	riecht nicht	riecht nicht
Kokain:	riecht nicht	riecht	stinkt
Atropin:	riecht nicht	riecht	—
Morphin:	riecht nicht	riecht	—
Koffein:	—	riecht nicht	stinkt.

Die Resultate dieser Versuche ergeben im allgemeinen eine gute Übereinstimmung mit den vorstehenden Bakterienversuchen, indem sie zeigen, daß die meisten der untersuchten Alkaloide erst in 5%iger Lösung das Wachstum der Fäulnisbakterien verhindern. Auch hier scheint das Piperidin weniger wirksam als das Pyridin zu sein. Intensiv wirkt das Chinolin und das Koffein.

Versuche an Hefezellen.

Bei diesen Versuchen wurde der gärungshemmende bezw. aufhebende Einfluß der Alkaloide auf die Hefezellen untersucht. Da nun aber erfahrungsgemäß die Stärke der Vergärung außerordentlich wenig von der Zahl der Hefezellen abhängt, war es

notwendig, die Substanzen vor der Konstatierung des Grades der Vergärung so lange auf die Hefezellen einwirken zu lassen, daß voraussichtlich alle Zellen von diesem Einfluß betroffen waren.

Die Versuchsanordnung war daher folgende: In einer ersten Reihe enthielten je 9 ccm Hefeaufschwemmung — zur Verwendung kam die gewöhnliche Preßhefe der Bäcker — 0,1 g Alkaloid (etwas mehr als 1%) in Lösung. In einer zweiten Reihe enthielten je 10 ccm Hefeemulsion 0,5 g Alkaloid in Lösung. Die Röhrchen beider Reihen wurden je 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Danach zu jedem 1 ccm einer 10%igen Traubenzuckerlösung hinzugefügt und sofort in die Gärungsröhrchen abgefüllt. Nach 24stündigem Aufenthalt derselben im Brutschrank von 37° C wurde das Resultat festgestellt.

\+ = Gasbildung.
— = Keine Gasbildung.
± = Verminderte Gasbildung.

		I.	II.
Pyridin	ca.:	1% +	5% —
Piperidin	„	1% +	5% —
Chinolin	„	1% —	
Koffein	„	1% +	
Coc. hydr.	„	1% +	5% —
Atrop. hydr.	ca.	1% +	5% —
Morph. hydr.	ca.	1% +	5% ±

Auch bei diesen Versuchen erweist sich Morphin so gut wie unwirksam, alle übrigen heben erst zu 5% die diastatische Eigenschaft der Hefezellen auf.

Versuche an isolierten Muskeln des Frosches.

Um die Erregbarkeit des Muskels vom Nerven aus auszuschalten, erhielt der Frosch eine Injektion von Kurare, das bekanntlich die motorische Nervenendplatte lähmt. Wäre dies nicht geschehen, so hätte sich nicht ohne weiteres entscheiden lassen, ob die durch ein Alkaloid hervorgerufene Erregbarkeitsabnahme einer Schädigung des Nerven, des Muskels oder beider zusammen zuzuschreiben war. Als zweckmäßige Dosis, die

eben den Nerven lähmt und den Muskel nur wenig in seiner Erregbarkeit herabsetzt, wurde 0,1 mg ermittelt.

Von dem so vorbereiteten Frosche wurden die Muskeln beider Beine sorgfältig lospräpariert und von den korrespondierenden der eine in die Alkaloidkochsalzlösung, der andere in die Kontrollkochsalzlösung gelegt. Nach bestimmten Zeitabschnitten wurden beide mit dem Schlitteninduktionsapparat gereizt und dabei der Rollenabstand bestimmt, bei dem eben Zuckung auftrat. Die Differenz zwischen dem Rollenabstand des vergifteten Muskels und dem seines zugehörigen Kontrollmuskels ergab dann ein anschauliches Maß für die Größe der Wirkung der betreffenden Substanz.

Die in Klammer gesetzte Zahl bedeutet den Rollenabstand, bei dem der zugehörige Kontrollmuskel eben Zuckung zeigt. D = Rollenabstandsdifferenz. 0 = nicht mehr erregbar. Die Lösungen enthalten 1 % Alkaloid in Substanz und 0,7 % NaCl.

	Rollenabstand nach				
	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	4 Std.
Neutralis. Pyridin:	15 (15) D = 0	13 (15) D = 2	11 (15) D = 4	3 (15) D = 12	0 (15) D = 15
Neutralis. Piperidin:	12 (12) D = 0	12 (12) D = 0	9 (12) D = 3	4 (12) D = 7	10 (12) D = 2
Cocain. hydr.:	5 (14) D = 9	0 (14) D = 14			
Atropin. hydr.:	15 (15) D = 0	7 (13) D = 6	6 (13) D = 7	3 (11) D = 8	0 (11) D = 11
Morphin. hydr.:	12 (12) D = 0	10 (12) D = 2	8 (12) D = 4	5 (10) D = 5	2 (10) D = 8

Chinolin und Koffein sind in der Tabelle nicht untergebracht, da beide in 1 %igen Lösungen den Muskeln innerhalb kurzer Zeit (ca. 5 Min.) zur Gerinnung, die sich schon makroskopisch durch Derbheit und trübes Aussehen charakterisiert, bringen, so daß nach dieser Zeit mit den stärksten Strömen keine Zuckung mehr erzeugt werden kann.

Versuche am Nervus ischiadicus des Frosches.

Nach Zerstörung des Gehirns des Frosches wurden die beiden Nervi ischiadici oben unter Fortnahme des Steiß- und Kreuzbeines bis zur Einmündungsstelle ins Rückenmark, unten bis zum Eintritt in die Mm. gastrocnemii freipräpariert und die

beiden Oberschenkel mit allen Weichteilen oben und unten abgeschnitten, sodaß die Unterschenkel nur durch die Ischiadici mit dem Rumpf in Verbindung standen. Es war nun ein hinreichend langes Stück Nerv vorhanden, das sich bequem in schmale Schälchen bringen ließ, und zwar der Nerv des einen Beines in die zu untersuchende Alkaloidlösung, der andere als Kontrollpräparat in physiologische Kochsalzlösung.

Bei der Reizung wurde darauf gesehen, immer möglichst an derselben Stelle zu reizen, da die Erregbarkeit, die ja bekanntlich ohnedies je nach dem Grade der Temperatur, Austrocknung etc. außerordentlichen Schwankungen unterliegt, auch nach dem Orte der Reizeinwirkung sehr wechselt.

Als Lösungen wurden 5%ige angewendet, da bei den dichten Hüllen, die die Achsenzylinder umgeben, von 1%igen keine genügende Wirkung erwartet werden durfte.

Ebenso wie bei den Muskelversuchen wurde mittels des faradischen Stromes gereizt und der Rollenabstand bestimmt, bei dem eben Zuckung erfolgte.

Die in Klammern gesetzten Zahlen bedeuten den Rollenabstand der minimalen Kontrollmuskelzuckung. 0 = nicht mehr erregbar.

	Rollenabstand nach						
	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	150 Min.	5 Std.
Neutr. Pyridin:	8	5	4	4	3	0	
	(20)	(25)	(25)	(30)	(30)	(28)	
Neutr. Piperidin:	24	14	15	18	15	15	
	(30)	(25)	(25)	(30)	(28)	(25)	
	noch nach 20 Std. mit stärkst. Str. erregb.						
	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.	150 Min.	5 Std.
Chinolin:	8	6	6	6	6	5	1
	(30)	(30)	(28)	(28)	(28)	(28)	(23)
Koffein:	22	22	19	15	13	6	0
	(30)	(28)	(25)	(25)	(27)	(23)	(20)
Cocain. hydrochl.:	10	8	8	6	4	0	
	(30)	(28)	(25)	(30)	(28)	(25)	
Atropin. hydrochl.:	19	16	14	13	5	0	
	(20)	(20)	(21)	(21)	(22)	(23)	
Morphin. hydrochl.:	22	21	21	24	21	10	3
	(28)	(25)	(25)	(27)	(27)	(23)	(20)

Von besonderem Interesse ist das gänzliche Fehlen einer Wirkung bei Piperidin, das aus theoretischen Gründen viel mit dem Pyridin verglichen wurde. Piperidin ist Hexahydropyridin,

und Loew glaubte aus einigen Literaturangaben den allgemeinen Schluß ableiten zu dürfen, daß die hydrierten Körper des Pyridins und Chinolins (Piperidin und Hychrochinolin) giftiger seien als die nicht hydrierten, eine Hypothese, die sich in dieser Allgemeinheit nicht aufrecht erhalten läßt. Insbesondere hat Heinz durch seine vergleichenden Untersuchungen über diese einfachsten Alkaloide zur Klärung dieser Frage beigetragen. Nach ihm wirken die beiden ungefähr gleichartig auf Tiere ein: sie verursachen zentrale Lähmung, setzen die Erregbarkeit der motorischen Nervenendapparate herab, die Muskelsubstanz werde langsam von ihnen angegriffen. Pyridin wirke aber energischer als Piperidin, von dem im Tierversuch zu gleich starker Lähmung doppelte Dosen nötig seien. Kunkel konnte die Angaben von Heinz bestätigen. Auch die Versuche dieser Arbeit bezüglich der Giftwirkung der beiden Alkaloide bei direkter Applikation auf Muskeln und Nerven erweisen die geringere Giftigkeit des Piperidins.

Zu zeigen, wie gefährlich es ist, solche allgemeine Gesetze wie das oben genannte aufzustellen, mögen diese Untersuchungen ein wenig beitragen. Auffallend ist z. B. die geringe Wirkung des Piperidins gegenüber dem Pyridin bei den Blutkörperchenversuchen. Ebenso tritt sie bei den Bakterien und Fäulnisversuchen, wenn auch nicht so eklatant, hervor. Andererseits erweisen die Opalinen- und vielleicht auch die Froschflimmerzellenversuche die größere Giftigkeit des Piperidins und zeigen so, daß es sehr wohl Protoplasmaarten geben kann, die eine spezifische Affinität zu einem im allgemeinen wenig giftigen Körper besitzen, so daß dieser zu einem für sie exquisit giftigen wird.

Vorstehende Arbeit wurde im pharmakologisch-poliklinischen Institut der kgl. Universität Erlangen angefertigt. Dem Direktor desselben, Herrn Prof. Dr. Penzoldt sei für die Überlassung des Materials, Herrn Privatdozenten Dr. Heinz für seine gütige Unterstützung bei Ausführung der Versuche mein verbindlichster Dank ausgesprochen.

Berücksichtigte Literatur.

H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Wiesbaden 1902.
R. Heinz, Einige neuere Aufgaben der Pharmakologie. Erlangen und Leipzig 1901.
— —, Virchows Archiv 122, 116. 1890.
H. Koeppe, Physikalische Chemie in der Medizin. Wien 1900.
H. Krauss, Inaugural-Dissertation. Erlangen 1901.
A. J. Kunkel, Handbuch der Toxikologie. Jena 1901.
O. Loew, Ein natürliches System der Giftwirkungen. München 1893.
E. Overton, Studien über die Narkose.
— —, Vierteljahrsschrift der naturforschenden Gesellschaft in Zürich. 41, 383. 1896.
— —, Zeitschrift für physikalische Chemie. 17, 164. 1895.
H. de Vries, Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. 14, 427. 1884.
H. Zahn, Inaugural-Dissertation. Erlangen 1901.

Lebenslauf.

Der Verfasser vorliegender Arbeit, Arnold Martin, protest. Konfession, wurde am 29. Juli 1878 als der älteste Sohn des nunmehrigen Rechtsanwaltes und Justizrates Ludwig Martin in Erlangen und seiner Frau Emma, geb. Scherrer, zu Stadtamhof geboren.

Nach Beendigung seiner Gymnasialstudien zu Neustadt a. A. und Erlangen widmete er sich im Jahre 1897 dem medizinischen Berufe. Bis zu dem im Jahre 1899 abgelegten Tentamen physicum studierte er in Erlangen, worauf er für ein Jahr nach München ging. Im Wintersemester 1900/1901 bezog er wieder die Erlanger Hochschule und bestand daselbst im Sommersemester 1902 die medizinische Staatsprüfung. Seit 1. November 1902 ist er als Assistent am hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Erlangen tätig.